

Adatok a csernozjomszerű réttalajok mikrobiológiájához

1. Vizsgálatok cellulózaktív, melaninképző és halotolerans sugárgombákon

MARTON MÁRIA

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézete,
Mikrobiológiai Osztály, Budapest

Jóllehet, ma már a cellulózbontó sugárgombák szisztematikáját, fiziológiáját és ökológiáját illetően igen sok értékes adat birtokában vagyunk [3, 5, 7, 8, 12, 17], mégis további tanulmányozásuk feltétlenül szükséges, amit megindokolhatunk az *Actinomyces*-genus rendszertanának jelenlegi kiforratlan állapotával, továbbá hiányos ismereteinkkel e szervezeteknek a természetben végbemenő cellulózbontás és humifikáció folyamatában betöltött szerepére vonatkozóan [5]. Kétségtelen, hogy az aktinomiceták nem tartoznak az u.n. táplálékspecialisták közé [5], mint pl. bizonyos cellulózbaktériumok, azonban az utóbbi évek rendszertani kutatásai — melyek keretében sok fajt több új önálló, fiziológiailag jobban elhatárolt fajra osztottak fel — arra engednek következtetni, hogy a cellulózaktivitás egyes meghatározott fajok törzseinél nagy, másoknál csekély gyakorisággal lép fel.

Az alantikban azon általam izolált sugárgombatörzsekre vonatkozóan szándékozom adatokat közölni, melyek a KRAINSKY [6] és különösen a RUBENTSCHIK [12] által behatóan tanulmányozott és a természetben feltehetően igen fontos szerepet játszó *Act. melanocyclus*, ill. *Act. Krainski* fajhoz rendszertanilag nagyon közel állanak.

A tanulmányozott talajtípus, amelyből ezen szervezetek előfordulását sikerült kimutatni lösz-szerű, agyagos anyaközetben kialakult csernozjomszerű réttalaj Szarvas határában. A talajprofil alsó részében a kicserélhető nátrium és a vízzoldható sók mennyisége emelkedik [1, 16].

A vizsgálatok folyamán, melyek során a mintegy 90 cm mélységű A_H -szintben a sugárgombák vertikális elterjedését igyekeztem felderíteni, sikerült hat különböző cellulózbontó *Actinomyces*-(*Streptomyces*-) „típust” izolálni. E hat típus közül három — melyekkel e helyen részletesen nem szándékozom foglalkozni — achromogennek bizonyult. Az első (Sz-1-11) a *Venezuelae*-szériába [14] tartozik, és rokonsági kapcsolatokat mutat az *Act. syringini* GAUZE ET AL. különösen pedig az *Act. roseofulvus* GAUZE ET AL. fajokkal [3]. A másik két típus (Sz-1-2 és Sz-2-3) az *Antibioticus*-szériába sorolható [14] és az *Act. olivaceus* W. et H. két, egymástól számos fiziológiai bélyeg tekintetében elválasztható, „ökotípusát” reprezentálják.

Különös figyelmet érdemeltek azok a törzsek, melyek három további — e talajban elterjedt — chromogen, cellulózaktív *Actinomyces*-(*Streptomyces*-) típust képviseltek. Az első típus — Sz-1-12 jelzéssel — szórványosan

nemcsak az A_H -, hanem a C-szint felső rétegében is előfordul 0–130 cm között. A második típus (Sz-3–4) gyakori előfordulása, azonban csak 40 és 110 cm között. Végül a harmadik típus (Sz-5–9) csupán a C-horizontból kimutatható (110–130 cm) s itt relatíve gyakori. (Az *Actinomyces*-típusok előfordulásának gyakoriságát az alantiek szerint határoztuk meg: 1. Megfigyelések az egyes *Actinomyces*-kolóniatípusok viszonylagos gyakoriságára vonatkozóan — a szín és morfológia alapján — a talajszuszpenziók terítéséhez felhásznált tápagarlemezeken. 2. Utólagos összehasonlító vizsgálatok azokon az *Actinomyces* izolátumokon, melyek az egyes fenti kolóniatípusokat képviselik.)

E három típus törzseinek legfontosabb közös jellemvonása: 1. Spirális spóratartók (sporophorok). 2. Intenzív melaninprodukció (Teszt a chromogenitásra l-tyrosin- Difco-élesztő kivonat-agartápközegen, ETTLINGER ET AL. [2] módszerével). 3. Cellulózaktivitás. 4. Nitritek képzése nitrátokból. 5. Erős proteolitikus aktivitás (a gelatina-teszten kívül megfigyelés tárgyát képezte a fehérjekioldási zónák mérete fehérje-agarlemezeken LIESKE szerint: [9]). 6. Élesztőkkel és gombákkal szemben nem mutatnak antibiotikus aktivitást. 7. A spórák felülete — elektronmikroszkópos megfigyelések alapján — sima.

Ami az érett légmicélium, pontosabban a spórák színét illeti az az Sz-1–12 és Sz-3–4 törzseknél tiszta hamuszürke (cinereus). Feltétlen szükséges azonban itt megjegyezni, hogy bizonyos tápközegeken a szubsztatmicélium fekete színe erősen áttetszhet a gyengén fejlett légmicéliumrétegen és azt a benyomást kelti mintha a spórák saját színe fekete lenne (ami viszont bizonyos irodalmi adatok szerint az *Act. melanosporeus* K. fajra egyenesen jellemző). Azonban laboratóriumunk eddigi tapasztalatai szerint fekete spóraszín a sugárgombák körében a legnagyobb valószínűség szerint nem fordul elő, és az ezt célzó irodalmi adatok vagy bizonyos fekete autolizistermékekre [2], vagy a lég- és szubsztatmicélium együttes színekomplessusára vonatkoznak. Általában az Sz-3–4 típus izolátumai gyenge, az Sz-1–12 izolátumai erőteljes légmicéliumképzést és sporulációt tanúsítanak.

Az Sz-5–9 típus kolóniái — érett állapotban is — fehér (niveus) légmicéliummal borítottak. Ezáltal ez a típus rokonságot árul el az *Act. albus* (ROSSI DORIA) GASPERINI fajjal, és az *Albus*-szériába [14] tartozik. Azonban az összehasonlító vizsgálatok szerint e három típust — melyek különben antibiotikusan egymással szemben teljesen hatástalanok — oly sok közös béliyeg köti össze, hogy ezek alapján az Sz-5–9 típust egy, a mélyebb talajrégiókhoz alkalmazkodott, az Sz-1–12 és az Sz-3–4 típusok köréből kivált, niveusvariánsnak kell tekinteni.

Rendszertani megfontolások alapján ez a három típus az *Act. Krainski* faj rokonsági körét képezi, melynek előfordulását RUBENTSCHIK [11, 12] Ukrajnában különböző talajtípusokban, fekete iszapokban, sókban gazdag vizekben stb. észlelte. A leglényegesebb különbség az Sz-1–12, Sz-3–4 és az Sz-5–9 típusok törzsei és az *Act. melanocyclus*, ill. a vele szinoním *Act. Krainski* faj között a szubsztatmicélium színe terén jelentkezik. Ugyanis a fenti három típus törzsei a szubsztatmicélium jellegzetes vörös endopigmentjét vagy egyáltalán nem, vagy csak „nyomokban” tartalmazzák, és a különböző diagnosztikai táptalajokon a kolóniák színe csupán a sárga, vörössesárgásbarna, barna és a fekete árnyalatai között variál. Erre a differenciára való tekintettel törzseink azonosítását az *Act. melanocyclus* [7], ill. az *Act. Krainski* [12] fajjal nem tartottam teljesen megvalósíthatónak. jóllehet meg kell

jegyezni, hogy ma már több fajnál is ismeretessé váltak variánsok, melyek a sárgabarna fő-, ill. a vörös kiegészítő-szériák között cseréltek helyet (lásd pl. az *Actinomyces (Streptomyces) reticuli* és *rubrireticuli* viszonyát [4] stb.).

Mivel RUBENTSCHIK adatai alapján ismeretes [11, 12], hogy az *Act. Krainski* törzsei között erősen halotolerans alakok is előfordulnak, célszerűnek látszott a három kitenyésztett *Actinomyces*-típus egy-egy törzsreprezentánsának érzékenységi mintegy kilenc sóféleséggel szemben megvizsgálni. Ebből a célból a törzseket glicerín-asparagin-folyadék-kultúrákban, különböző sókoncentrációk jelenlétében tenyésztettük termosztátban 28 C°-on. Az eredmények szerint az Sz-5—9 és az Sz-1—12 törzsek még 35, ill. 30% $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ jelenlétében is jól fejlődnek. Az Sz-3—4 vizsgált törzse ugyanezen sót 22%-ig jól, 25%-ig gyengén, ill. szórványos növekedéssel viselte el. Az Sz-5—9 és az Sz-1—12 törzsek tenyésztése 28% $Na_2SO_4 \cdot 10 H_2O$ jelenlétében még erőteljes, azonban az Sz-3—4 törzs csak 20%-ig fejlődött zavartalanul, és legfeljebb 24%-ig volt még szórványos micéliumképzés kimutatható. A három vizsgált típusreprezentáns közepes szenzibilitást mutatott a NaCl jelenlétével szemben: Az Sz-5—9 törzs ezt a sót 7%-ig jól, 10%-ig egyre fokozódó érzékenységgel viselte el. Az Sz-1—12 és az Sz-3—4 törzsek növekedésének legfelső határa 7% NaCl jelenlétében volt megállapítható. A KCl fokozottabb toxikus hatást gyakorolt: A kontrollal megegyező növekedést legfeljebb 5%, nyomokban esetleg 7% mellett tapasztaltunk. Egyébként a növekedés felső határa $NaNO_3$ jelenlétében 8%, NH_4Cl jelenlétében 5—7%, KJ esetében ugyancsak 5—7%, $Na_2S_2O_3 \cdot 5 H_2O$ mellett 11—16%, végül $(NH_4)_2SO_4$ jelenlétében 10—14%-nál volt észlelhető. Ezek az adatok arra engednek következtetni, hogy a vizsgált törzsek az elért tolerancia értékek szempontjából, a halotolerans aktinomiceták sorában középszerű helyet foglalnak el [13, 14]. Elsősorban Na- és Mg-szulfátok magasabb koncentrációi jelenlétében képesek szaporodni, ami a legtöbb halotolerans aktinomiceta esetében megállapítható volt. Egyébként — általában — a sótolerancia nívója nem tekinthető jelentős szisztematikai bélyegnek, és erre már maga RUBENTSCHIK is rámutatott [11, 12].

A három *Actinomyces*-típus törzsreprezentánsainak további összehasonlító vizsgálata során megállapítást nyert, hogy valamennyi igen gyenge lipolitikus aktivitást mutat, gátlóhatásuk gyenge vagy egyáltalán nem jelentkezik — natrium-asparaginat-agaron — a *Bac. subtilis*, *Sarcina lutea*, *Rhizobium meliloti* tesztorganizmusok irányába. Ezenkívül az Sz-3—4 törzs gyenge gátlást mutatott az *E. coli* ellen. Az oldódó pigment színe valamennyi törzsnél — valamennyi diagnosztikai táptalajra vonatkozó megfigyelést figyelembe véve — a sárga, barna és fekete árnyalatait mutatja. Haemolitikus aktivitásuk nem volt. A dextrinagarlemezekeken észlelt dextrinkioladási zónák rádiusza az Sz-5—9 és az Sz-1—12 törzseknél 5—10 mm, az Sz-3—4 törzsnél 1 mm alatt. A tejet az Sz-5—9 és az Sz-1—12 csak peptonizálta, az Sz-3—4 koagulálta is. Az amilolitikus aktivitás különösen az Sz-5—9 törzsnél volt kifejezett. Az Sz-1—12 bromkrezolvörös-agaron maltóz, laktóz, d-xylóz, mannóz és mannit — mint egyetlen elérhető C-forrás — jelenlétében erőteljes savképzést mutat, ezzel szemben a másik két törzs csak igen gyenge savprodukción áruul el. PRIDHAM és GOTTLIEB szintetikus alaptápközegén [10] az Sz-1—12 törzs 26 vizsgált N-forrásból biztosan csupán 12-t, az Sz-3—4 törzs már 17-et, végül az Sz-5—9 valamennyit, vagyis 26-ot értékesített (pontosabban 25-t, míg a $NaNO_2$ -hasznosítás bizonytalan). Ezen adatok szerint e három törzs között

tetemes különbség van. Így pl. az Sz-1—12 és az Sz-3—4 a karbamid, dl-valin, dl-tryptophan, l-tyrosin, l-hystidin N-forrásokat alig vagy egyáltalán nem, az Sz-5—9 mindezeket jól értékesítette. További különbséget lehetett a törzsek növekedése felső hőmérsékleti határának megállapításánál észlelni. Az Sz-1—12 és az Sz-3—4 törzsek 40° és 41° között hagytak fel a fejlődéssel, azonban az Sz-5—9 már 36 C°-nál beszüntette növekedését. Az utóbbi fokozott termozenszibilitása feltétlenül összefüggésben van a szervezet vertikális elterjedési viszonyaival.

E helyen szeretnék köszönetet mondani Buti Ilonka asszisztens szíves közreműködéséért.

Összefoglalás

Egy csernozjomszerű réttalajból három cellulózaktív, chromogen és halotolerans *Actinomyces*-(*Streptomyces*) „típust” sikerült kimutatni. E szervezetek közelebbi rokonsági kapcsolatokat mutatnak az *Act. melanocyclus*, ill. *Act. Krainski* fajjal, azonban egymás között is több fiziológiai-kulturális bélyegben eltérnek. Feltételezhető, hogy e három sugárgombatípus nemcsak rendszertanilag, de ökológiai pozíciójában is a RUBENTSCHIK által Ukrajna sós vizeiből, iszapjaiból és talajaiból kitenyésztett humuszproducens, cellulózaktív, halotolerans aktinomicetákat képviseli.

Érkezett : 1961. november 30.

Irodalom

- [1] DARAB, K.: Öntözéses gazdaságok üzemi talajterképe. Agrokémia és Talajtan. **3.** 385—396. 1954.
- [2] ETTLINGER, L., CORBAZ, R. & HÜTTER, R.: Zur Systematik der *Actinomyceten*. 4. Eine Arteneinteilung der Gattung *Streptomyces* W. ET H. Archiv Mikrobiol. **31.** 326—358. 1958.
- [3] GAUZE, G. F. ET AL.: Voproszű klasszifikacii aktinomicetov-antagonisztov. Medgiz. Moszkva 1957.
- [4] HÜTTER, R., KELLER—SCHIERLEIN, W. & ZÄHNER, H.: Zur Systematik der *Actinomyceten*. 6. Die Produzenten von Makrolid-Antibiotica. Archiv Mikrobiol. **39.** 158—194. 1961.
- [5] IMSCHENEZKI, A. A.: Mikrobiologie der Cellulose. Fischer Verl. Berlin. 1959.
- [6] KRAINSKY, A.: Die Aktinomycceten und ihre Bedeutung in der Natur. Centr. Bakteriolog. Parasitenkund. Abt. II. **41.** 649—688. 1914.
- [7] KRASSILNIKOV, N. A.: Opredeletelj bakterij i aktinomicetov. Izd. A. N. SSSR. Moszkva. 1949.
- [8] KUCSAEVA, A. G., KRASSILNIKOV, N. A., SZKRJABIN, G. K. & TAPŰKOVA, Sz.: Aktinomicetű buro-zelenoj gruppű. Trudű Inst. Mikrobiol. **8.** 226. 1960.
- [9] LIESKE, R.: Morphologie und Biologie der Strahlenpilze. Bornträger Verl. Leipzig. 1921.
- [10] PRIDHAM, T. G. & GOTTLIEB, D.: The utilization of carbon compounds by some *Actinomycetales* as an aid for species determination. J. Bacteriol. **56.** 107—114. 1948.
- [11] RUBENTSCHIK, L.: Zur Frage der aeroben Zellulosezersetzung bei hoher Salzkonzentration. Centr. Bakteriolog. Parasitenk. II. **76.** 305—314. 1928.
- [12] RUBENTSCHIK, L.: Zur Charakteristik von zellulosezersetzenden *Actinomyceten*, die ein schwarzes Pigment (Melanin) bilden. Proc. Intern. Congr. Soil Sci. 2nd Congr. Leningrad—Moscow. 1930. 1932.
- [13] STAPP, C.: Untersuchungen über *Actinomyceten* des Bodens. Zentr. Bakteriolog. Parasitenkund. II. **107.** 129—150. 1953.

- [14] SZABÓ, I. & MARTON, M.: Az őrvös elágazást nem kepező *Streptomyces* fajok új rendszerezése. Agrokémia és Talajtan. **10.** 257—276. 1961.
- [15] SZABÓ, I. MARTON, M., SZABOLCS, I. & VARGA, L.: Die Anpassung der Mikroflora und Mikrofauna an die Verhältnisse der Szikböden (Alkaliböden) mit besonderer Berücksichtigung eines degradierten Solontschak-Solonetzbodens. Acta Agric. Hung. **9.** 9—39. 1959.
- [16] SZABOLCS, I. & DARAB, K.: Az Öntözési és Talajjavítási Kutatóintézet Szarvas—Bikazúgi Gazdaságának talajviszonyai. Agrokémia és Talajtan. **3.** 117—130. 1954.
- [17] SZEGI, J.: Cellulozorazlagajusesaja aktivnoszty nekotorüh pocsv Vengrii. Folia Plant. Megj. alatt. 1961.

Данные к микробиологии черноземовидных луговых почв I.

М. МАРТОН

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии АН Венгрии, Будапешт

Резюме

Автор изолировал штаммы лучистых грибов из слабо засоленной черноземовидной луговой почвы и в их числе выделил три типа актиномицет, которые родственны описанному Рубенчиком целлюлозо-разлагающему, продуцирующему меланин, галотолерантному виду *Actinomyces Krainski* (Act. melanocyclus).

Главными общими чертами этих трех типов актиномицет являются следующие: 1. Они образуют спиральные спораносцы. 2. Активно продуцируют меланин. 3. Активно разлагают целлюлозу. 4. Восстанавливают нитраты в нитриты. 5. Обладают сильной протеолитической активностью. 6. По отношению к дрожжам и грибам почти не показывают антибиотической активности. 7. Поверхность спор по электромикроскопическим наблюдениям — гладкая.

Цвет воздушного мицелия двух типов (Sz — 1—12 и Sz — 3—4) пепельно-серый (cinereus). Третий тип (Sz — 5—9), встречающийся только в горизонте С (110—130 см), образует белые (niveus) споры. По сравнительным исследованиям весьма вероятно, что Sz — 5—9 — мутация *niveus*, которая отделилась от других двух типов и приспособилась к почвенным условиям более глуболежащих слоев.

Эти типы, которые отличаются друг от друга по ряду физиологических признаков, особенно по спектру усвоения азота на синтетической питательной среде Придхама—Готтлиба, от вида *Actinomyces Krainski* Rubentschik отличаются в первую очередь по цвету субстратного мицелия. Последний имеет характерную красную окраску субстратного мицелия, который при исследовании выделенных автором штаммов, появлялся лишь в виде оттенка.

В отношении солеустойчивости все три типа достигли среднего уровня. Наибольшую устойчивость они проявили по отношению к $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ (22—35%), далее $Na_2SO_4 \cdot 10 H_2O$ (20—28%). В присутствии NaCl верхняя граница их роста была между 7—10%, и т. д.

По мнению автора, выделенные им три типа лучистых грибов, являются представителями, выделенных Рубенчиком из соленых вод, ила и почв Украины, меланин-положительных, целлюлозоактивных, галотолерантных актиномицет.

Beiträge zur Mikrobiologie der schwarzerdeähnlichen Auböden (Smonitza) I.

M. MARTON

Forschungsinstitut für Bodenkunde und Agrikulturchemie der Ungarischen Akademie der
Wissenschaften, Budapest

Zusammenfassung

Aus einem schwarzerdeähnlichen Auboden (auf lößähnlicher, tonreicher Ablagerung des Körös-Flusses in Ungarn. Im unteren Teil des Profils dieses Bodens vermehrt sich die Menge der wasserlöslichen Salze und des austauschbaren Natriums) wurden in großer Zahl Strahlenpilze ausgezüchtet. Zwischen den untersuchten Stämmen wurden drei *Actinomyces* (*Streptomyces*) Stämmetypen gefunden, die nähere Verwandtschaft zu den — von Krainsky und von Rubentschik beschriebenen — Arten *Act. melanocyclus* bzw. *Act. Krainski* zeigen. Die wichtigsten gemeinsamen Merkmale dieser drei Typen sind: 1, Bildung spiraler Sporophoren. 2, Melaninproduktion. 3, Zelluloseaktivität. 4, Reduktion der Nitrate bis zum Nitrit. 5, Starke proteolytische Aktivität. 6, Keine antibiotische Wirkung gegen Hefen und Schimmelpilze. 7, Sporenoberfläche (nach elektronenoptischen Beobachtungen): glatt.

Die Farbe der Sporen ist bei 2 (Sz—1—12 und Sz—3—4) von den 3-Typen: aschgrau (cinereus). Der dritte Typus (Sz—5—9) — dessen Vorkommen es nur aus dem C-Horizonte (110—130 cm Tiefe) nachweisen gelungen ist — entwickelte weiße (niveus) Luftmyzel bzw. Sporen. Aber gemäß den vergleichenden Untersuchungen scheint es als sehr wahrscheinlich, daß wir im Falle des Typus Sz—5—9, in Wirklichkeit, einer von den zwei anderen Typen sich abgespalteten und sich zu den tieferen Bodenverhältnissen angepassten Niveus-Mutante gegenüberstehen.

Diese 3 Typen, die voneinander in mehreren physiologischen Merkmalen abweichend sind (So z. Beispiel zeigen verschiedene N-Quellen Verwertungsspektren auf Pridham-Gottliebschen synth. Nährmedien, usw.) unterscheiden sich von der Art *Act. melanocyclus* (bzw. von deren Synonyme *Act. Krainski*) in erster Linie in Betracht auf die Farbe des Substratmycels. *Act. melanocyclus* zeigt nämlich intensive rote Substratmycelienfarbe, was sich bei den isolierten Stämmen dieser drei *Actinomyces* Typen höchstens nur als ein schwacher roter Stich meldete.

Da Rubentschik auch stark halotolerante Stämme der Art *Act. Krainski* ausgezüchtet hatte, prüfte Verfasserin die Salztoleranz der Stämme dieser drei Typen über. Sie zeigten die größte Toleranz gegenüber $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ (22—35%) weiters $Na_2SO_4 \cdot 10 H_2O$ (20—28%). NaCl wurde höchstens in einer Konzentration zwischen 7—10% ertragen usw.

Nach der Meinung der Verfasserin repräsentieren diese näher studierten 3 *Actinomyces*-Typen — in dem untersuchten Auboden (an dem Gebiet von Alkaliböden) — die von Rubentschik als *Act. Krainski* beschriebenen und in Ukraine aus salzreichen Gewässern, Teichschlamm und Böden nachgewiesenen, zelluloseaktiven, chromogenen und halotoleranten Actinomyceten.